

广东烟草赤星病菌强毒力菌株生物学特性的研究

郭长伟 戚佩坤

(华南农业大学资源环境学院, 广州, 510642)

Studies on the Biological Characters of Three Virulent Strains of Tobacco Brown Spot Fungus in Guangdong Province

Guo Changwei Qi Peikun

(College of Natural Resources and Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

关键词 烟草赤星病菌; 强毒力菌株; 孢子形成; 孢子萌发

Key words tobacco brown spot; virulent isolates; sporulation; spore germination

中图分类号 S 435.72

烟草赤星病 [*Alternaria longipes* (E. & E.) Tisd. & Wadk.] 是烟草上发生较多的叶斑类病害之一, 在广东省危害日渐严重. 由于该病害的发生临近或正处于烟草的采摘期, 不宜施用化学农药, 最好选育抗病品种防治, 故了解人工接种的各有关因素极为重要. 虽国内外对此病的病原菌及其生物学特性都有一些研究, 但烟草赤星病菌的生态适应颇强, 不同地理分布的菌株, 其致病力、危害情况差异较大. 遂对此菌的强毒力菌株在孢子萌发, 营养生长及孢子形成三方面进行了研究.

强毒力菌株筛选: 接种植物为当前广东烟草栽培的主要品种 K-326(中感) 成株, 试验菌株来源如下: 5~6, 13~30 均采自广东, 烟草品种均为 K-326(具体地点: 5~6 为大埔县, 10~11, 20, 22~28 为五华县, 13 为南雄县, 14~15 为始兴县, 16~19 为乳源县, 21 为坪石县, 29~30 为梅县). 7~9 为广东梅县, 烟草品种为碧青 1 号, 12 为广东南雄, 烟草品种为 9040, 31 为河南省许昌县, 品种不详. 第 1 次用菌丝块法对离体叶片接种, 分别在上、中、下三个部位各选 1 片叶子, 接种菌有 31 个菌株, 将在 PDA 上 25 °C 培养 8 d 的菌种, 取 $d = 4$ mm 的菌丝块, 贴于叶片上; 第 2 次采用孢子液喷雾法(孢子液浓度约为 5×10^7 个/L), 离体叶片接种, 二次接种共选出 6 个菌株. 第 3 次用孢子液喷雾法(孢子浓度约为 5×10^7 个/L) 接种盆栽的成株, 对所选的 6 个菌株再筛选. 最后选出强毒力菌株 3 个: 即烟 5、烟 26 及烟 27.

1 孢子萌发

以凹玻片法做了包括温度、相对湿度、氢离子浓度、光照时间及营养的影响.

(1) 分生孢子在 5~35 °C 范围内均可萌发, 在 15~30 °C 之间均可得到 90% 以上的萌发率. (2) 相对湿度达 90% 有的菌株便开始孢子萌发, 其萌发率随湿度增加而提高, 但相对湿度 100% 时的萌发率仍低于水滴中, 说明孢子的萌发对湿度的要求很高. (3) 在测试的 8 个 pH 值中, 孢子均可萌发, pH 5~7 时的萌发率均在 90% 以上, pH 3 时仍为 40% 的萌发率. 但不同菌株也可有差异, 烟 27 在 pH 8 时, 萌发率仍高. (4) 在连续光照, 连续黑暗, 光暗 12 h 交替 3 个处理中, 孢子萌发率在统计学上无显著差异, 可见光照对其影响甚微. (5) 孢子能在较短的时间里萌发, 2 h 即有 35% 的孢子萌发, 8 h 萌发率几乎达到 85%. 孢子萌发率在不同的营养液中(w 均为 2% 的葡萄糖、蔗糖、胡萝卜煎汁、胡萝卜滤汁、番茄煎汁、番茄滤汁、马铃薯煎汁、烟叶煎汁、烟叶滤汁, 雨水、自来水), 相差甚微, 均在 94% 以上, 但孢子萌发在营养液中所生的芽管数多而粗壮, 一般 3~4 根, 水中一般都是 1~2 根.

2 营养生长

以菌落直径法(马铃薯蔗糖琼脂)和菌丝称重法(察氏液)做了温度对营养生长的影响. (1) 营养生长的温

1998-11-05 郭长伟, 男, 26 岁, 硕士, 现在广州市蔬菜研究所工作

度介于 5~38 ℃ 之间, 23~30 ℃ 范围内生长良好, 最适温度 25 ℃. 5 ℃ 仍可生长, 38 ℃ 生长停止. (2) pH 3~10 范围内, 菌丝体均生长良好. pH 7 时菌丝生长最旺盛. (3) 光照对菌丝生长无明显影响.

3 孢子形成

(1) 12 种培养基分别为马铃薯蔗糖琼脂、燕麦琼脂、酵母膏蔗糖琼脂、V₈ 汁琼脂、鲜烟叶滤汁琼脂、干烟叶煎汁琼脂(老叶、幼叶 2 种)、滤纸浆琼脂、滤纸琼脂 + V_{B1}、滤纸浆 + V₈ 汁琼脂、马铃薯蔗糖琼脂 + V_{B1}、烟叶蔗糖琼脂. 结果以 V₈ 汁琼脂、滤纸浆琼脂和 V₈ 汁 + 滤纸浆琼脂最有利于孢子形成(表1).

马铃薯蔗糖琼脂与燕麦琼脂不利于产生孢子. 在滤纸浆琼脂中添加 V_{B1} 孢子的形成明显增加, 但在 PDA 中加入 V_{B1} 对孢子的形成并无影响. 强毒力菌株本身的产孢能力也有很大不同. (2) 10~35 ℃ 范围内均有孢子产生, 合适产孢温度为 20~30 ℃, 最适产孢温度为 25 ℃, 10 ℃ 产孢极少. 10、25、35 ℃ 分别产孢 2.5 × 10⁸、3.4 × 10⁸、9.9 × 10⁸ 个/L. (3) pH 3 时培养基为液态, 菌丝只进行营养生长而不产生孢子; pH 7 时产孢量最大; pH 1 时仍能产生孢子. (4) 在黑暗环境中, 病原菌产生孢子量最大, 但与连续光照和 12 h 光暗交替条件下的产孢量无显著差异.

烟草赤星病菌的生物学特性, 国内外均有报道. 国外的研究颇广, 但这些报道的结论有许多不一致, 可能与不同作者所采用的菌株数量、试验方法差异有关. (1) 由于研究的目的是为广东省的烟草选育抗病品种服务, 故必须筛选出强毒力的菌株. 广东强毒力菌株孢子萌发、营养生长与孢子形成的适温均稍高, 35 ℃ 仍产孢不少, 30 ℃ 孢子萌发仍达 97.3%, 说明广东地处亚热带, 病原菌在长期的自然选择中, 对温度的适应性可能提高; (2) 菌株本身的产孢能力差别颇大, 如表 1 所示, 烟 27 的产孢能力远比烟 5, 烟 26 低, 几乎相差 7~15 倍, 故筛选菌株很重要. (3) 病菌对湿度要求很高, 100% 湿度仍不如水滴, 因此, 进行抗病品种筛选的接种试验必须保证高湿环境, 才能确保接种成功; 室内测定湿度对孢子萌发有影响的方法宜将干孢子涂抹载玻片上, 如果以孢子悬浮液滴于载玻片上, 无论吹干、阴干与否, 均难以排除孢子吸水造成的误差; (4) 对适于孢子形成的培养基, 国内外有各种报道. Ionnaidis 等(1973)提出利马豆琼脂、燕麦琼脂和马铃薯蔗糖琼脂. 苏淑真等(1981)报道马铃薯蔗糖琼脂, V₈ 汁琼脂及烤干烟叶煎汁琼脂, 董汉松等(1989)认为滤纸浆琼脂(FPA), 蔬菜混合煎汁琼脂和燕麦琼脂产孢最佳, 张超冲等(1991)、杨玉范等(1994)认为察氏琼脂产孢较多, 作者将滤纸浆琼脂与 V₈ 汁以 7:3 的比例混合, 远超过 V₈ 汁或滤纸浆琼脂单独应用, 大大有利于培养繁殖人工接种用的孢子. 燕麦琼脂、马铃薯蔗糖琼脂虽都有不少产孢, 但不及滤纸浆琼脂及 V₈ 汁琼脂, 更不如滤纸浆 - V₈ 汁琼脂. 试验中干烟叶煎汁琼脂的效果不好, 与苏淑真等(1981)的报道相差颇大, 究其原因, 是否与干烟叶量甚至品种等因素有关, 与不同作者对培养基的制备过程有关, 有待进一步试验.

参 考 文 献

- 苏淑真, 孙守恭. 1981. 台湾烟草赤星病之研究 I. 病原菌之形态及病原性. 烟试汇报, (15): 99~114
- 杨玉范, 华致甫, 马贵龙. 1994. 烟草赤星病菌 [*Alternaria alternata* (Fr.) Keiss.] 的生长和孢子产生条件及寄主范围的研究. 吉林农业科学, (4): 55~59
- 张超冲, 黄式玲. 1991. 烟草赤星病菌的生物学特性. 广西农业大学学报, 12(2): 33~40
- 董汉松, 王智发. 1989. 烟草赤星病菌的不同菌株在 11 种培养基上的生产和产孢能力. 中国烟草, (4): 1~9
- Ionnaidis N M, Main C E. 1973. Effect of culture medium on production and pathogenicity of *Alternaria alternata* conidia. Plant Disease Reporter, 57(1): 39~42

[责任编辑 张 砾]